

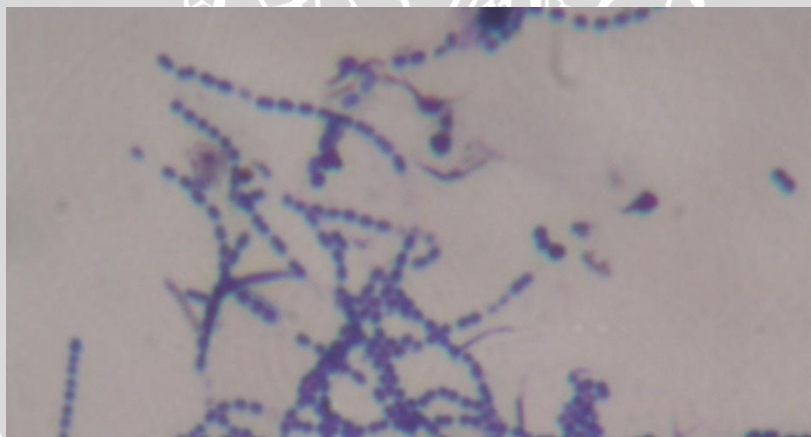
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri

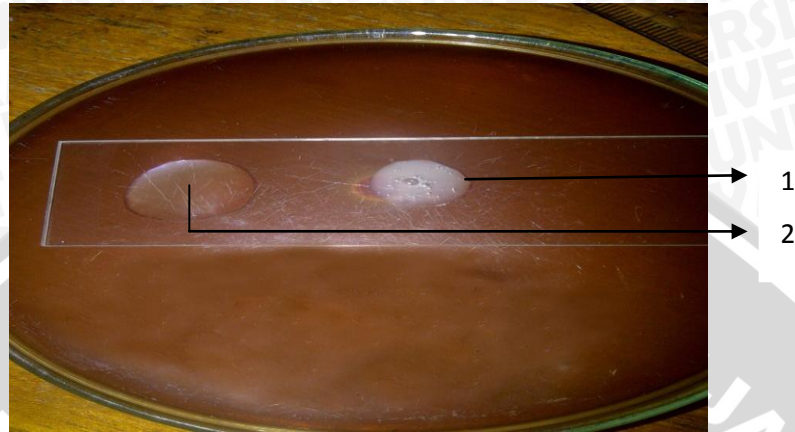
Proses identifikasi bakteri *Streptococcus pyogenes* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Brawijaya. Proses identifikasi bakteri ini meliputi 3 tes yaitu tes pewarnaan gram, tes katalase, dan tes cakram basitrasin. Pada tes pewarnaan gram, hasil yang didapat dengan pengamatan mikroskop perbesaran 1000X adalah bentuk bakteri yang bulat dan membentuk rantai. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri gram positif (+) (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 : Gambar Bakteri *Streptococcus pyogenes* dalam pewarnaan gram yang memiliki bentuk bulat dan membentuk rantai

Proses Identifikasi bakteri berikutnya adalah tes katalase, yang dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Streptococcus pyogenes* pada *object glass* kemudian ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3 %. Pada tes katalase yang dilakukan, didapatkan hasil tidak terdapatnya gelembung udara yang berarti

bahwa hasil tes negatif dan bakteri yang diidentifikasi tersebut adalah bakteri *Streptococcus pyogenes* (Gambar 5.2)



Gambar 5.2 : Hasil tes katalase

Keterangan :1. tes katalase positif

2. tes katalase negatif yang menunjukkan bahwa sediaan bakteri tersebut adalah bakteri *Streptococcus pyogenes*

Tes Identifikasi bakteri selanjutnya adalah tes cakram basitrasin. Tes cakram basitrasin ini dilakukan untuk membedakan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan bakteri *Streptococcus* lainnya. Hasil yang didapatkan dari tes cakram basitrasin adalah adanya zona inhibisi yang dihasilkan koloni *Streptococcus pyogenes* disekitar cakram (Gambar 5.3)



Gambar 5.3 : Hasil Tes Cakram Basitrasin *Streptococcus pyogenes* dimana terdapat zona inhibisi di sekitar cakram

5.1.2 Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Buah mahkota dewa yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Materia Medika kota Batu. Buah mahkota dewa yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan blender sampai diperoleh bentuk serbuk sebanyak 100 gram. Serbuk buah mahkota dewa ini kemudian diekstrak dengan menggunakan etanol 96 % melalui metode maserasi, barulah didapatkan ekstrak etanol buah mahkota dewa sebanyak 100 ml. Sebelum digunakan untuk uji efektivitas antibakteri, ekstrak etanol buah mahkota dewa *distreaking* terlebih dahulu pada media *NA* (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C untuk melihat apakah ekstrak buah mahkota dewa steril dan terbebas dari kontaminasi bakteri (Gambar 5.4).



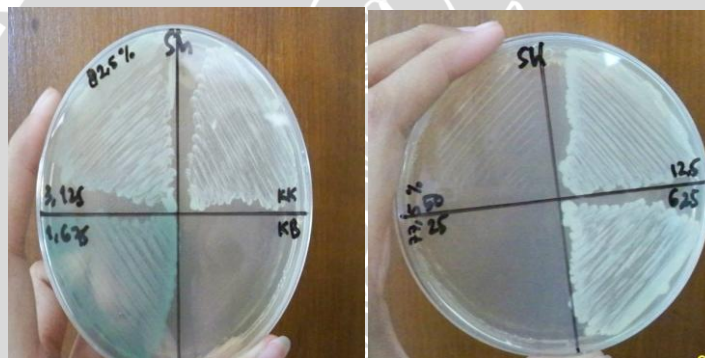
Gambar 5.4 : Hasil *Streaking* ekstrak etanol buah mahkota dewa dimana tidak didapatkan pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 18-24 jam

5.1.3 Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

5.1.3.1 Uji Eksplorasi

Sebelum melakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji eksplorasi. Pada uji eksplorasi pertama, dimulai dengan konsentrasi 50%, 25%,

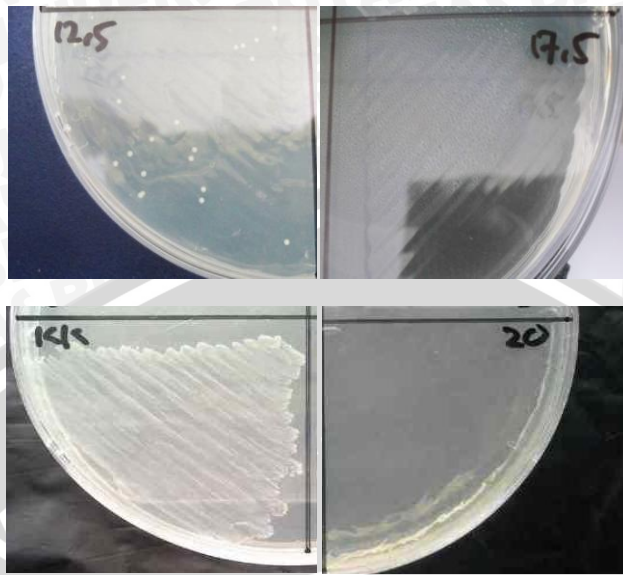
12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,675% (Gambar 5.5). Pada konsentrasi tersebut diatas, sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 25%, sehingga dilakukan uji eksplorasi kedua dengan perapatan konsentrasi. Konsentrasi yang dipilih untuk uji eksplorasi kedua adalah konsentrasi yang memiliki selisih 2,5% dimulai dari konsentrasi 10% yaitu konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20% (Gambar 5.6). Pada uji eksplorasi kedua didapatkan pertumbuhan koloni bakteri berakhir pada konsentrasi 17,5%. Dikarenakan hasil uji eksplorasi kedua yang sudah bagus, kemudian dilakukanlah pengulangan dengan konsentrasi yang sama.



Gambar 5.5 : Uji Eksplorasi Pertama

Keterangan : 50 % : tidak ada pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ; 25% : tidak ada pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ; 12,5% : terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ; 6,25 : terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; 3,125% : terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ; 1,675% : terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* ; KK: terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; KB: hasil streaking ekstrak etanol buah mahkota dewa



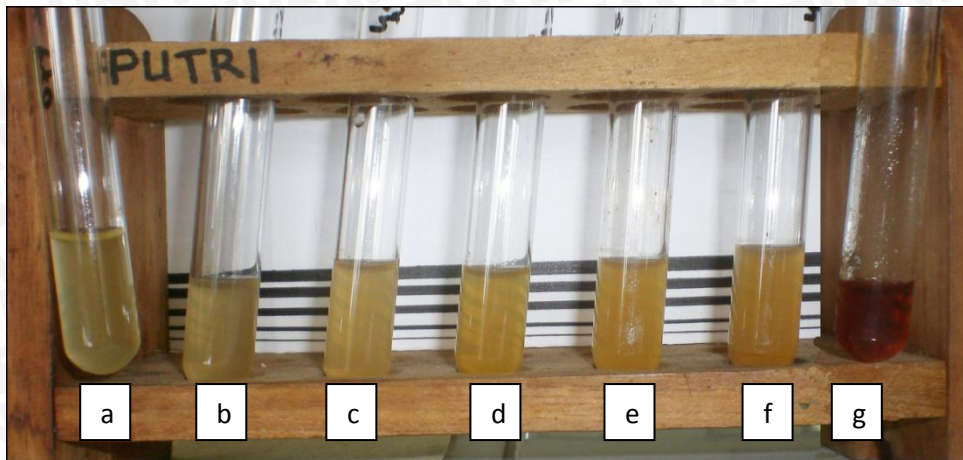


Gambar 5.6 : Uji Eksplorasi Kedua

Keterangan : 10% : terdapat sedikit pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; 12,5% : terdapat sedikit pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; 15% : terdapat sedikit pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; 17,5% : tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; 20% : tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; KK : terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*; KB : hasil streaking ekstrak etanol buah mahkota dewa

5.1.3.2 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM)

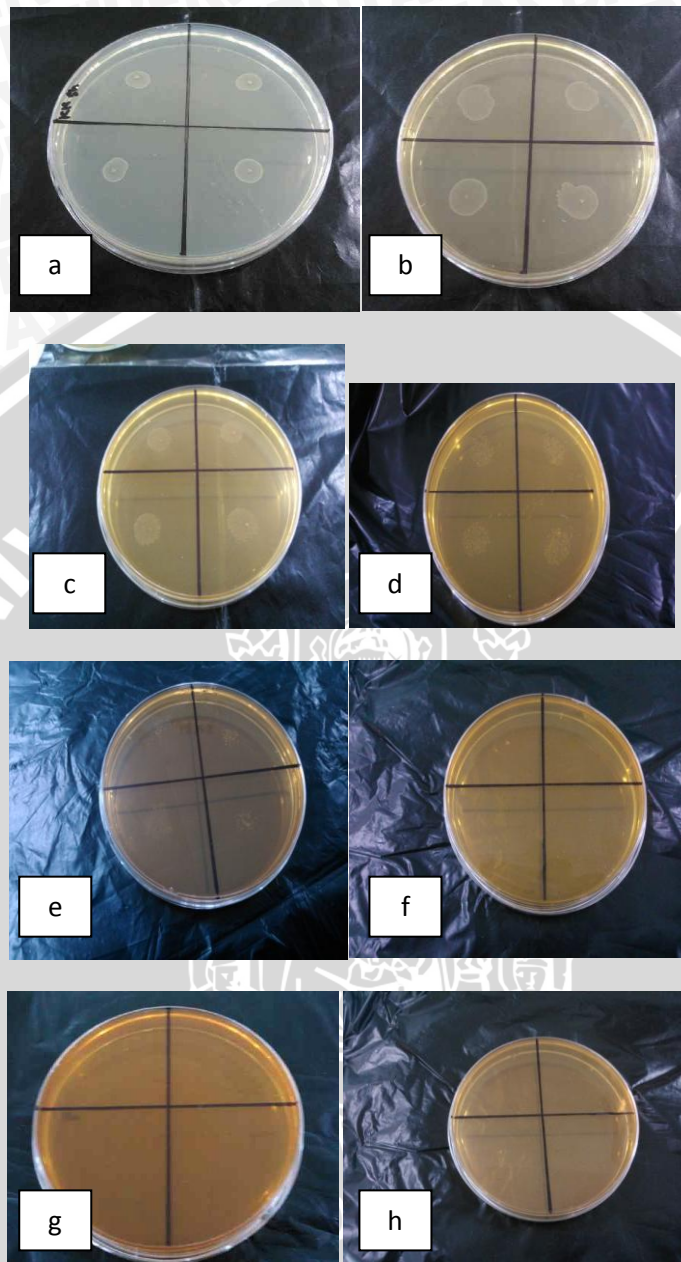
Langkah pertama untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah menggunakan metode dilusi tabung. Pada metode dilusi tabung, setelah dilakukan inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C, tampak kekeruhan pada semua konsentrasi yang digunakan (Gambar 5.7). Hal ini dikarenakan ekstrak etanol buah mahkota dewa murni yang memang sudah memiliki warna keruh, sehingga untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) tidak bisa dilakukan menggunakan metode dilusi tabung. Penghitungan nilai KHM ekstrak etanol buah mahkota dewa dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar.



Gambar 5.7 : Hasil Penelitian KHM dengan metode dilusi tabung

Keterangan : a : Kontrol kuman; b : Konsentrasi 10% ; c : Konsentrasi 12,5% ; d : Konsentrasi 15% ; e : Konsentrasi 17,5% ; f : Konsentrasi 20% ; g : Kontrol bahan

Pada penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode dilusi agar, konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa yang digunakan yaitu konsentrasi 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20%. Pada metode dilusi agar, digunakan 2 konsentrasi tambahan yaitu konsentrasi 5% dan 7,5%. Penambahan konsentrasi tersebut ditujukan untuk mendapatkan data scoring yang lebih bervariasi. Setiap konsentrasi tersebut kemudian dicampurkan dengan media *Nutrient Agar (NA)* yang masih cair. Kemudian campuran ini didinginkan hingga BHI yang mengandung ekstrak etanol buah mahkota dewa terbentuk menjadi medium padat dalam bentuk agar. Agar tersebut kemudian ditetesi 1 suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* $10 \mu\text{l } 10^6 \text{ CFU/ml}$, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya barulah diamati pertumbuhan dari koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang terjadi. Hasil uji dilusi agar dapat dilihat pada Gambar 5.8.



Gambar 5.8 : Hasil Uji Dilusi Agar

Keterangan: a : Kontrol kuman, pertumbuhan koloni bakteri tampak tebal; b :Konsentrasi 5%, pertumbuhan koloni bakteri tampak tebal; c : Konsentrasi 7,5%, pertumbuhan koloni bakteri tampak agak tebal; d : Konsentrasi 10%, Pertumbuhan koloni bakteri tampak tipis; e: konsentrasi 12,5%, pertumbuhan koloni bakteri tampak tipis; f : Konsentrasi 15%, tidak tampak pertumbuhan koloni bakteri; g: Konsentrasi 17,5%, tidak tampak pertumbuhan koloni bakteri; h: Konsentrasi 20%, tidak tampak pertumbuhan koloni bakteri

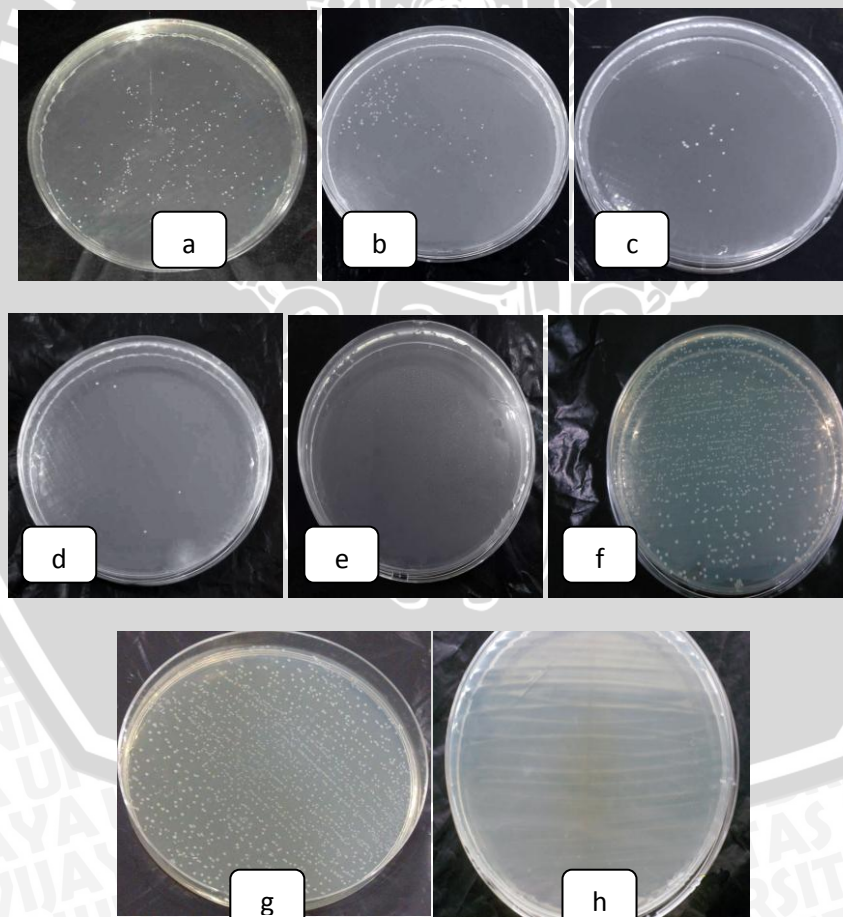
Berdasarkan hasil dilusi agar ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Streptococcus pyogenes*, terlihat bahwa pada

konsentrasi 15%, 17,5%, dan 20% tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri.

Hal ini menandakan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terletak pada konsentrasi 15%.

5.1.3.3 Hasil Penentuan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah dari ekstrak buah mahkota dewa yang mampu membunuh bakteri *Streptococcus pyogenes*. KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri atau kurang dari 0,1% *Original Inoculum* (OI) pada media *Nutrient Agar* (NA) yang telah dilakukan penggoresan sebanyak 1 ose.



Gambar 5.9 : Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA

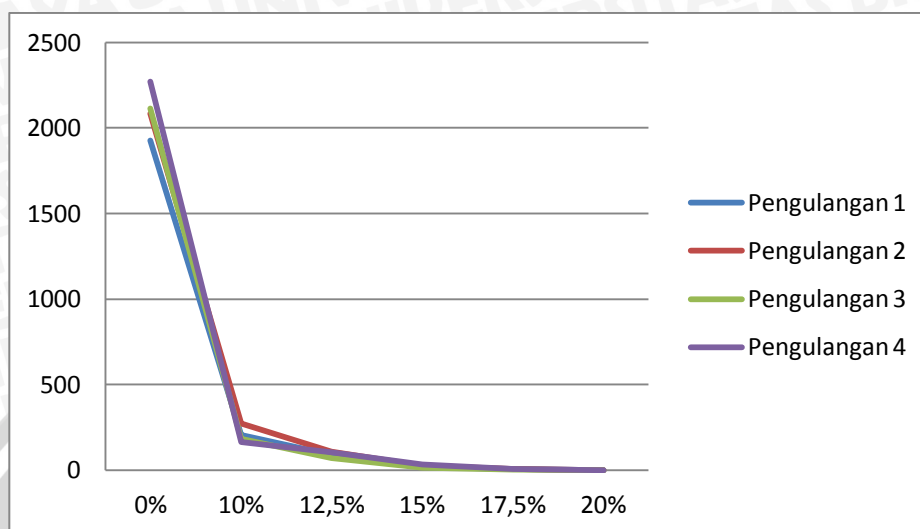
Keterangan : a : konsentrasi 10%; b : konsentrasi 12,5% ; c : Konsentrasi 15%; d : Konsentrasi 17,5% ; e : Konsentrasi 20%; f : *Original Inoculum* ; g : KK ; h : KB

Kadar Bunuh Minimum (KBM) didapatkan dengan cara melakukan *streaking* dari media tabung yang berisi ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan konsentrasi 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20%, pada media NA. Kemudian, media *Nutrient Agar* (NA) tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya barulah bisa dilihat dan dihitung jumlah koloni bakteri yang muncul pada setiap media *Nutrient Agar* (NA) yang telah diinkubasi (Gambar 5.9). Jumlah koloni yang muncul dihitung menggunakan *colony counter*. Hasil penghitungan jumlah koloni pada media *Nutrient Agar* (NA) dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Jumlah Koloni

Konsentrasi	Jumlah Koloni (CFU/plate)				Rata-Rata
	Pengulangan				
	1	2	3	4	
0%	1925	2082	2114	2272	2098,25
10%	206	273	181	166	206,5
12,5%	91	108	69	103	92,75
15%	20	27	16	32	23,75
17,5%	6	6	4	8	6
20%	0	0	0	0	0
OI	1115	1021	1106	1249	1122,75

Gambar 5.10 Grafik Jumlah Pertumbuhan Koloni



Berdasarkan Tabel 5.1 dan Grafik 5.1 diatas, dapat dilihat bahwa pertumbuhan koloni bakteri tertinggi didapatkan pada ekstrak etanol buah mahkota dewa konsentrasi 0%, sedangkan pada ekstrak etanol buah mahkota dewa konsentrasi 20% tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*. Dari tabel tersebut diatas juga dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa, semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh. Nilai KBM ditentukan berdasarkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri atau kurang dari 0,1% *Original Inoculum*. Karena jumlah rata-rata koloni bakteri pada *Original Inoculum* adalah 1122,75 CFU/plate, maka yang merupakan KBM dari penelitian ini adalah ekstrak etanol buah mahkota dewa dengan konsentrasi 20%.

5.2 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji normalitas data dan homogenitas, uji one way ANOVA, dan uji korelasi-regresi. Uji normalitas data dan homogenitas dilakukan untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak.

Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan tes Kolmogorov-Smirnov. Sedangkan uji homogenitas data digunakan untuk mengetahui varian data/homogenitas. Uji one way anova digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*.

5.2.1 Uji Normalitas data dan Homogenitas

Untuk menguji data yang didapat tersebar normal atau tidak, digunakan *Kolmogorov-Smirnov test*. Pada uji normalitas data didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.848 ($p > 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang didapat tersebar/terdistribusi normal (Lampiran 2). Pada uji homogenitas data menggunakan *levene test homogeneity of variances*, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.112 ($p > 0.05$) yang dapat diartikan bahwa data yang didapat memiliki homogenitas yang sama (Lampiran 2). Setelah didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen, analisa data selanjutnya dapat menggunakan uji *one way ANOVA*.

5.2.2 Uji *One way ANOVA*

Uji *one way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus Pyogenes*. Pada uji *one way ANOVA* yang dilakukan, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa efek pemberian berbagai tingkat konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95% (Lampiran 2).

5.2.3 Uji *Post Hock Tukey*

Uji *Post Hock Tukey* merupakan uji perbandingan berganda yang menunjukkan pasangan kelompok sampel (kelompok perlakuan atau konsentrasi dan jumlah koloni) yang memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan yang signifikan (Lampiran 2). Pada hasil uji *Post Hock Tukey*, dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan pada kelompok sampel yang ditunjukkan oleh nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$).

Tabel 5.2 : Nilai Signifikansi pada masing masing konsentrasi berdasarkan Uji *Post Hock Tukey*

konsentrasi	0%	10%	12,5%	15%	17,5%	20%
0%	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
10%	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
12,5%	0.000*	0.000*	0.002*	0.000*	0.000*	0.000*
15%	0.000*	0.000*	0.002*	0.000*	0.828**	0.599**
17,5%	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.828**	0.998**
20%	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.599**	0.998**

Keterangan : * kelompok sampel yang berbeda secara signifikan

** kelompok sampel yang tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan

Pada kelompok sampel yang tidak memiliki perbedaan secara signifikan, dapat dilakukan uji *Homogenous Subsets* (Lampiran 2). Hasil yang didapat dari uji *Homogenous Subsets* menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 15%, 17,5%, dan 20% tidak didapatkan perbedaan secara signifikan, sedangkan pada konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa 0%, 10%, dan 12,5%, menunjukkan perbedaan yang signifikan.

5.2.4 Uji Korelasi-Regresi

Hasil uji Korelasi *Pearson* (Lampiran 2) menunjukkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) yang dapat diartikan bahwa terdapat hubungan yang bermakna

pada pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni *Streptococcus pyogenes*. Besar koefisien korelasi *Pearson* adalah -0.908. Tanda negatif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang terbalik yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh, begitu sebaliknya. Nilai 0.908 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri (nilai lebih dari 0.5).

Pada uji Regresi didapatkan nilai *Adjusted R Square* (R^2) sebesar 0.816 (Lampiran 8) yang berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah sebesar 81.6% sedangkan 18.4% sisanya disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa disebabkan lama penyimpanan ekstrak, kualitas dalam penyimpanan alat-alat laboratorium, atau akibat dari resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 1600.14 - 97.96X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol buah mahkota dewa. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa maka jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* akan meningkat yaitu sebesar 1600.14. Dengan pengaruh ekstrak etanol buah mahkota dewa maka setiap peningkatan konsentrasi sebesar 1% menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri hingga 97.96 koloni.